

孔及其他结构的形成,并具有不同功能。细菌外膜与宿主免疫活性细胞的相应膜受体相互作用,刺激细胞和体液免疫的形成,可作为细菌疫苗的候选蛋白。陈洁等<sup>[1]</sup>证实 OMP 疫苗对幽门螺杆菌感染具有免疫保护作用。

铜绿假单胞菌是一种导致院内感染最常见的重要条件致病菌,易引起威胁生命的感染性休克。因此寻找有效的防治方法极为重要。本研究制备的铜绿假单胞菌 OMP 具有较强的免疫原性,注射后 1 周即产生较高的抗体效价,而且还有较强的免疫保护作用。保护实验结果表明,A 组兔免疫后 56 d 血清的半保护剂量为 0.05 ml,这将为临床防治铜绿假单胞菌提供一条新思路。

参 考 文 献

1 陈洁,陈旻湖,朱森林,等. 外膜蛋白疫苗对幽门螺杆菌感染的免

疫保护作用. 胃肠病学,2001,6:75-77.

2 Park WJ, Cho YJ, Kim YG, et al. Active and passive protective effect of CFC-101 (Pseudomonas vaccine) in mice. J Appl Pharmacol, 1994, 2: 326-330.  
3 Lee NG, Bhn BY, Jung SB, et al. Human anti-Pseudomonas aeruginosa outer membrane proteins IgG cross-protective against infection with heterologous Immunotype strains of P. Aeruginosa. FEMS Immunol And Med Microbiol, 1999, 25: 339-347.  
4 Lee NG, Jung SB, Ahn BY, et al. Immunization of burn-patients with a pseudomonas aeruginosa outer membrane protein vaccine elicits antibodies with protective efficacy. Vaccine, 2000, 18: 1952-1961.  
5 廖立新,曹郁生,李国辉,等. 一种快速粗提铜绿假单胞菌外膜蛋白的简便方法. 江西医学院学报, 2003, 43: 60-61.

(收稿日期:2003-09-06)

(本文编辑:苟学萍)

## 兔角膜碱烧伤后早期尿激酶型纤溶酶原激活剂及其受体的表达

严军 杨恬 曾益军 杨进

作为纤溶酶原激活剂/纤溶酶原激活剂抑制剂(plasminogen activator /plasminogen activator inhibitor, PA/PAI)级联的重要因子,尿激酶型纤溶酶原激活剂(urokinase type PA, uPA)及其受体 uPA-R 具有高效的分解细胞外环境蛋白酶的作用。研究表明, uPA 和 uPA-R 在角质形成细胞的迁移、增殖、分化以及重建上皮组织等方面发挥着十分重要的作用<sup>[1]</sup>,但有关它们在角膜碱烧伤中的作用鲜见报道。本实验对兔角膜碱烧伤后早期 uPA 和 uPA-R 的表达进行了研究。

### 一、材料与方 法

1. 角膜上皮细胞的分离和培养:空气注射法处死健康新西兰大白兔(第三军医大学实验动物中心),分离角膜上皮细胞,组织块法常规培养。

2. 体外实验分组、碱烧伤模型建立和免疫细胞化学(immunocytochemistry, ICC)研究:原代角膜上皮细胞随机分为实验组(20 瓶)和对照组(5 瓶)。实验组细胞待长满瓶壁后用 0.1 mol/L NaOH(25 ml 培养瓶加入 0.2 ml NaOH)处理 1.5 min 模拟碱烧伤。伤后 6、12、24、48 h 在 4℃ 条件下用丙酮固定(每个时相点 5 瓶),以备后续实验。对照组细胞用无菌等渗盐水处理,48 h 后固定,方法同实验组。利用 uPA 和 uPA-R 单克隆抗体(美国 Santa Cruz 公司)和 ICC 试剂盒(北京中山生物技术有限公司)检测体外条件下 uPA 和 uPA-R 的表达<sup>[2]</sup>。采用 TIGERTM 细胞图像仪和分析软件 Version 3.3(重庆大学信息通信技术中心)检测阳性结果的平均吸光度(A)值。

3. 体内实验分组、碱烧伤模型建立和免疫组织化学(immunohistochemistry, IHC)研究:健康新西兰大白兔 35 只,随机分为实验组(30 只)和对照组(5 只)。实验组兔用 20 g/L

异戊巴比妥钠溶液(30 mg/kg)麻醉,0.1 mol/L NaOH 处理角膜以达到 IV 级烧伤标准<sup>[3]</sup>。实验组兔在碱烧伤后 6、12、24、48、96、192 h 处死,每时相点 5 只,取角膜固定后包埋切片,行 HE、二氨基联苯胺(DAB)染色并作镜下观察<sup>[4]</sup>。对照组兔用等渗盐水处理角膜,处理后 192 h 取角膜,同上切片并观察。利用 uPA 和 uPA-R 单克隆抗体和 IHC 试剂盒(北京中山生物技术有限公司)检测体内条件下 uPA 和 uPA-R 的表达<sup>[2]</sup>,并同前进行图像分析。

4. 统计学处理:数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 student t 检验对结果行显著性差异分析。

### 二、结果

1. 体外研究中 uPA 和 uPA-R 的表达:uPA 和 uPA-R 在碱烧伤后 6 h 的表达均较低且稳定;碱烧伤后 12 h,二者的表达量明显升高( $P < 0.05$ ),至伤后 24 h 达到最大值;伤后 24—48 h, uPA 和 uPA-R 的表达又迅速下降。见表 1。

表 1 体外研究中兔角膜上皮细胞碱烧伤后 uPA 和 uPA-R 的表达( $\bar{x} \pm s$ )

组别	样本数(瓶)	uPA	uPA-R
对照组	5	0.51 ± 0.11	0.45 ± 0.08
实验组			
伤后 6 h	5	0.57 ± 0.15 <sup>#</sup>	0.57 ± 0.13 <sup>#</sup>
伤后 12 h	5	0.68 ± 0.15 <sup>**</sup>	0.73 ± 0.13 <sup>**</sup>
伤后 24 h	5	2.67 ± 0.69 <sup>*</sup>	2.78 ± 0.40 <sup>*</sup>
伤后 48 h	5	1.09 ± 0.21 <sup>**</sup>	1.36 ± 0.29 <sup>**</sup>

注:与对照组比较, \*  $P < 0.05$ ; 与伤后 24 h 比较, #  $P < 0.01$

2. 体内研究中 uPA 和 uPA-R 的表达:病理切片显示,碱烧伤 12 h 时,上皮细胞的最外侧发生不同程度的凹陷,上皮细胞收缩、胞核拉长,细胞排列无序,并有向基底面聚集的趋势(图 1)。uPA 和 uPA-R 在体内的表达规律与体外表达相似,但表达量明显低于体外研究结果。碱烧伤 48 h 以后,二

基金项目:国家重点基础研究发展规划资助项目(G1999054204)  
作者单位:400038 重庆,第三军医大学基础部细胞生物学教研室  
通信(讯)作者:杨恬, Email: tiany@163.net, 电话: 023-68752260

者的表达又有一个反弹过程,在伤后 96 h 达到第 2 个峰值,然后又开始下调,至伤后 192 h 其表达降至较低水平。二者的表达部位集中在角膜上皮基底层(图 2)。伤后 uPA 和 uPA-R 的表达量分析见表 2。



图 1 兔角膜碱烧伤后 12 h, 上皮细胞无序,外侧出现凹陷 HE × 400

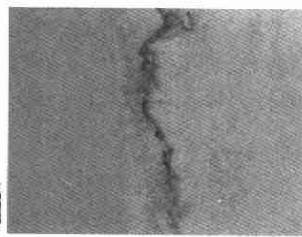


图 2 兔角膜碱烧伤后 24 h uPA 的表达集中在上皮基底层 DAB × 100

表 2 兔活体角膜上皮细胞碱烧伤后 uPA 和 uPA-R 的表达 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	兔数(只)	uPA	uPA-R
对照组	5	0.115 ± 0.022	0.098 ± 0.018
实验组			
伤后 6 h	5	0.289 ± 0.054 * Δ	0.103 ± 0.011 *
伤后 12 h	5	0.398 ± 0.045 * Δ	0.403 ± 0.078 *
伤后 24 h	5	1.405 ± 0.263 *	1.158 ± 0.336 *
伤后 48 h	5	0.765 ± 0.086 * Δ	0.693 ± 0.078 *
伤后 96 h	5	0.924 ± 0.173 * Δ	0.823 ± 0.115 *
伤后 192 h	5	0.336 ± 0.065 * Δ	0.400 ± 0.053 *

注:与对照组比较, \*  $P < 0.01$ ; 与伤后 24 h 比较, #  $P < 0.05$ , Δ  $P < 0.01$

### 三、讨论

有观点认为, uPA 和 uPA-R 主要在表皮角质形成细胞的迁移、增殖等活动中发挥作用,并受 PA/PAI 级联的其他因子如 PAI-2 的抑制<sup>[5]</sup>。uPA 和 uPA-R 主要通过复合物的形成而起作用,前者可单独介导周围基质蛋白的水解、细胞迁移和组织修复等活动,后者在细胞迁移、新生血管的形成、组织重建以及肿瘤细胞的侵袭转移等生理和病理过程中发挥

重要作用<sup>[6]</sup>。

本实验结果表明,无论是离体还是在体研究,角膜碱烧伤后早期 uPA 和 uPA-R 的表达可能拥有相同或近似的规律,该结果与人类和小鼠的胚胎发育、毛囊发育以及皮肤创伤愈合过程中 PA/PAI 级联各因子的表达规律基本一致<sup>[5-7]</sup>。结合 PA/PAI 级联的其他研究结果<sup>[8]</sup>,可以看出 PAI-2 的动态变化正好与 uPA 和 uPA-R 的表达规律相反。至于 uPA 和 uPA-R 的表达还存在第 2 个峰值,一方面可能是由于此时 PAI-2 表达量的下降促进了 uPA 和 uPA-R 的反弹;另一方面碱性物质可能使角膜始终处在持续性伤害的阶段,新的伤害引发新一轮的修复过程,从而刺激上述因子继续发挥作用。

### 参 考 文 献

- Osmak M, Babic D, Abramic M, et al. Plasminogen activator inhibitor type 2: potential prognostic factor for endometrial carcinomas. Neoplasma, 2001, 48: 462-467.
- 蔡文琴, 王伯运, 主编. 实用免疫细胞化学与核酸分子杂交技术. 成都: 四川科学技术出版社, 1994. 505-519.
- 韩春茂, 姚玉峰, 余朝恒. 眼烧伤的激素治疗. 中华烧伤杂志, 2001, 17: 330-332.
- 杜卓民, 主编. 实用组织学技术. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1998. 1-57.
- Muehlenweg B, Sperl S, Magdolen V, et al. Interference with the urokinase plasminogen activator system; a promising therapy concept for solid tumours. Expert Opin Biol Ther, 2001, 1: 683-691.
- Berger DH. Plasmin/plasminogen system in colorectal cancer. World J Surg, 2002, 26: 767-771.
- Ivanova R, Soares P, Castro P, et al. Diffuse (or multinodular) follicular variant of papillary thyroid carcinoma: a clinicopathologic and immunohistochemical analysis of ten cases of an aggressive form of differentiated thyroid carcinoma. Virchows Arch, 2002, 440: 418-424.
- 严军, 杨恬, 杨进. uPA 和 PAI-2 在兔角膜碱烧伤修复过程中的作用. 创伤外科杂志, 2003, 5: 282-285.

(收稿日期: 2004-02-02)

(本文编辑: 赵 敏)

## 电烧伤患者血清可溶性白细胞介素 2 受体水平的变化

范锟铄 朱志祥 李国辉 刘德伍

### 一、资料与方法

1. 临床资料与分组: 选择笔者单位收治的电烧伤患者 26 例, 年龄 16~55 岁。按致伤电场强度分为 3 组(表 1), 另按 III 度烧伤面积分为 3 组(表 2)。将健康献血员 10 名(健康组)和重度烧伤(非电烧伤)患者 10 名(烧伤组)作为对照, 男: 女均为 8: 2, 健康组年龄(31 ± 6)岁, 烧伤组(30 ± 10)岁。有其他全身性疾病者及妊娠期妇女、严重复合伤患者均未纳入本研究。

表 1 按不同致伤电场强度分组的电烧伤患者一般情况 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	男: 女	年龄(岁)	III 度烧伤面积(% TBSA)
< 1.5 kV/m 组	7	6: 1	28 ± 12	6 ± 4
1.5 ~ 15.0 kV/m 组	10	7: 3	30 ± 10	8 ± 6
> 15.0 kV/m 组	9	8: 1	27 ± 12	8 ± 3

表 2 按不同 III 度烧伤面积分组的电烧伤患者一般情况 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	男: 女	年龄(岁)
< 5% TBSA 组	11	8: 3	28 ± 9
5% ~ 10% TBSA 组	8	7: 1	31 ± 11
> 10% TBSA 组	7	6: 1	29 ± 11

作者单位: 518035 深圳市第二人民医院烧伤整形科(范锟铄、朱志祥); 江西医学院附属第一医院烧伤科(李国辉、刘德伍)